

(19)



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



(11) Veröffentlichungsnummer: **0 585 552 A1**

(12)

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(21) Anmeldenummer: **93109742.2**

(51) Int. Cl.⁵: **C07K 15/00, A61K 37/02,
A61K 37/54**

(22) Anmeldetag: **18.06.93**

(30) Priorität: **09.07.92 DE 4222534**

(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung:
09.03.94 Patentblatt 94/10

(84) Benannte Vertragsstaaten:
**AT BE CH DE DK ES FR GB GR IE IT LI LU NL
PT SE**

(71) Anmelder: **BEHRINGWERKE
Aktiengesellschaft
Postfach 1140
D-35001 Marburg(DE)**

(72) Erfinder: **Römis, Jürgen
Sonnenhang 13
D-3550 Marburg(DE)
Erfinder: Paques, Eric-Paul
Auf der Kanzel 4
D-3550 Marburg(DE)
Erfinder: Bartlett, Robert
Schmittweg 23
D-6100 Darmstadt-Arheilgen(DE)
Erfinder: Dickneite, Gerhard
Zum Neuen Hieb 31
D-3550 Marburg(DE)**

(54) Verwendung von Komplement-Inhibitoren zur Herstellung eines Arzneimittels zur Prophylaxe und Therapie von entzündlichen Darm- und Hauterkrankungen sowie Purpura.

(57) Die Erfindung betrifft die Verwendung von Komplement-Inhibitoren, besonders von C1-Inaktivator oder der Faktoren I oder H, zur Herstellung eines Arzneimittels zur Prophylaxe und Therapie von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen, inflammatorischen Hautkrankheiten und Purpura.

EP 0 585 552 A1

Die Erfindung betrifft die Verwendung von Komplement-Inhibitoren, besonders von C1-Inaktivator oder der Faktoren I oder H, zur Herstellung eines Arzneimittels zur Prophylaxe und Therapie von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen, inflammatorischen Hautkrankheiten und Purpura.

Das Komplement-System besteht aus einer Reihe von Proteinen, in der Mehrzahl Proteasen, die nach initialer Aktivierung zur Bildung des terminalen Lysekomplexes und somit zur Zerstörung von Zielzellen führen. Ausgelöst werden solche Prozesse "klassisch" durch Bildung von Immunkomplexen bzw. Kontaktaktivierung und "alternativ" durch körperfremde Strukturen, wie Bakterien und deren Lipopolysaccharide. Beide Aktivierungswege münden in die Erzeugung der Komponente C3b, die zusammen mit C5-C9 den Membran-Angriffskomplex initiiert. Proteolytische Aktivierung der Komponenten C3, C4 und C5 führt zur Freisetzung der Anaphylatoxine C3a, C4a und C5a, die chemotaktisch auf Entzündungszellen wirken.

Die wichtigsten physiologischen Regulatoren des Komplementsystems sind die inhibitorisch wirksamen Proteine C1-Inaktivator, Faktor I (auch als C3b-Inaktivator bezeichnet) und dessen Akzelerator Faktor H. Der erstgenannte Inhibitor entfaltet seine Wirkung an der Initiationsstelle des "klassischen" Weges durch Interaktion mit der aktivierenden Protease. Dagegen ist der Faktor I eine Protease, deren katalytische Wirkung durch Faktor H erheblich gesteigert wird, die das C3b-Molekül und auch das C4b-Molekül durch partielle Degradation inaktiviert und somit an der Mündung von "klassischen" und "alternativen" Weg regulatorisch/inhibierend eingreift.

Die Aktivierung des Komplement-Systems wurde im Verlauf einer Reihe von Autoimmun-Erkrankungen beobachtet, darunter Lupus erythematodes und rheumatoide Arthritis. Diese Aktivierungsprozesse sind allgemein mit einem Verbrauch der beteiligten Faktoren, insbesondere der Inhibitoren, verbunden. Obwohl oft auch eine Erhöhung der Komplementfaktoren im Verlauf der Akut-Phase-Reaktion zu beobachten ist, reicht die inhibitorische Kapazität nicht aus, eine Komplementaktivierung und die daraus resultierenden Folgen zu kontrollieren. Eine Substitution mit diesen Regulatoren bzw. prophylaktische Verabreichung erscheint daher sinnvoll. Die therapeutische Wertigkeit der Faktoren I und H bei der Glomerulonephritis wurde beschrieben in EP-A-0 222 611.

Die Ätiopathogenese chronisch entzündlicher Darmerkrankungen, vor allem "Morbus Crohn" und "Colitis ulcerosa", ist bis heute nicht geklärt. Ausgelöst durch einen "Primärstimulus" wird ein Immunprozeß in Gang gesetzt, dem die Gewebe-Infiltration von Entzündungszellen und schließlich eine Zell- und Gewebeschädigung folgen. Klinische Symptome sind Ulzera, Fistelbildungen und häufige blutige Stühle/Diarrhoe, die mit Fieberschüben und krampfartigen Schmerzen einhergehen.

Bisher konnten keine für diese Erkrankungen pathognomischen Autoantikörper oder autoreaktive T-Zellen definiert werden, die solche entzündlichen Prozesse als Autoimmunkrankheit ausweisen. Eine Beteiligung von Immunprozessen wird jedoch nicht ausgeschlossen, die eine Komplementaktivierung zur Folge haben können. Dabei können die entstehenden Anaphylatoxine C3a, C4a, C5a zur Anlockung von Entzündungszellen beitragen. Auffällig sind auch die in der frühen Krankheitsphase auftretenden Ödeme der Darmschleimhaut, wie sie typischerweise nach Aktivierung des Komplementsystems beobachtet werden.

Auch in Hautkrankheiten, wie z.B. bei pustulären Dermatosen, Dermatitis, oder Psoriasis, werden erhöhte C5a-Spiegel gemessen, die eindeutig die Aktivierung des Komplementsystems belegen und die Anlockung von Entzündungszellen vermitteln. Diese wiederum tragen maßgeblich zur Ausprägung des Krankheitsbildes bei.

Auch beim Krankheitsbild der Purpura können z.B. endotheliale Zellen ödematösen Veränderungen unterworfen sein, die zu kapillären Dilatationen führen. Klinisch manifestiert sich dieser Zustand als Erythem/Ödem z.B. an der Stelle der Hautläsion. Generell wird unter dem Begriff "Purpura" die Extravasation von "geformten Blutelementen" aus dermalen Blutgefäßen in die Haut (z.B. Dermis) verstanden. Bei der idiopathischen thrombozytopenischen Purpura tritt typischerweise die Blutungsneigung mit Hämatombildung (Extravasation) auf, die durch eine Verarmung an Blutplättchen maßgeblich unterstützt wird. Eine "entzündliche" Purpura geht häufig mit einer Vasculitis einher, die durch Immunkomplexe bedingt sein kann.

Demnach haben chronisch entzündliche Darmerkrankungen sowie Purpura (verbunden mit Hautnekrosen) und entzündliche Hautkrankheiten die Extravasation von Flüssigkeit (aus Blutgefäßen) gemeinsam. Die häufig resultierende Ödembildung, wie auch die Anlockung und Infiltration von Entzündungszellen in das inflammatorische Gewebe sind Vorgänge, wie sie häufig nach Aktivierung des Komplementsystems beobachtet werden.

Zur Untersuchung der beschriebenen Vorgänge und der pharmakologischen Prüfung von therapeutisch wirksamen Substanzen wird oft das als "Arthus-Reaktion" bekannte Tiermodell herangezogen (siehe Beispiel 1).

Wir fanden nun, daß die Komplement-Inhibitoren C1-Inaktivator und die Faktoren I und H eine hemmende Wirkung auf die Arthus-Reaktion ausüben.

Für die Prophylaxe und Therapie entzündlicher Hautkrankheiten, wie z.B. pustuläre Dermatosen, Dermatitis oder Psoriasis und Darmerkrankungen, besonders Morbus Crohn und Colitis ulcerosa sowie entzündlicher Purpura (verbunden mit Hautnekrosen) können demnach Komplement-Inhibitoren, besonders C1-Inaktivator und/oder Faktor I und/oder Faktor H-haltige Lösungen verwendet werden.

- 5 Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung von Komplement-Inhibitoren zur Herstellung eines Arzneimittels zur Prophylaxe und Therapie von chronisch entzündlichen Darmerkrankungen, inflammatorischen Hautkrankheiten und Purpura.

Besonders geeignet sind der C1-Inaktivator und die Faktoren I und H oder Kombinationen dieser.

- 10 Bevorzugt werden gereinigte Inhibitoren verwendet, die auf eine dem Fachmann bekannte Weise aus Blutplasma präpariert werden können.

Auch auf gentechnischem Wege exprimierte und gereinigte Inhibitoren können dafür eingesetzt werden.

Bei der Applikation auf intravenöse (Bolus oder Infusion), intramuskuläre oder subkutane Weise werden folgende Dosierungen verwendet:

- 15 C1-Inaktivator : 1-5000 IU/kg Körpergewicht (KG)
pro Tag, bevorzugt 5-500 IU/kg x Tag.
Faktor I: 0.005-100 mg/kg KG pro Tag,
bevorzugt 0.01-50 mg/kg x Tag.
Faktor H: 0.005-100 mg/kg KG pro Tag,
bevorzugt 0.01-50 mg/kg x Tag.

- 20 Die Inhibitoren können separat oder als Kombination angewendet werden. Allgemein ist die Applikation nur eines dieser Inhibitoren ausreichend.

- Eine Kombination der hemmenden Proteine erscheint besonders dann sinnvoll, wenn die Aktivierung beider Komplementwege, des klassischen und des alternativen, nicht auszuschließen ist. C1-Inaktivator allein inhibiert zwar die Kontaktaktivierung des klassischen Weges und dadurch auch die darauf folgende
25 Freisetzung der Anaphylatoxine, hat jedoch keinen Einfluß auf den alternativen Weg. Dagegen kann durch die Verwendung der Faktoren I und/oder H die Erzeugung des terminalen Lysekomplexes kontrolliert werden. Der Verbrauch der Komplementfaktoren bis zur Mündungsstelle beider Aktivierungswege ist dagegen durch alleinige Verwendung der Faktoren I und H nicht aufzuhalten.

30 Beispiel:

- Die Arthus-Reaktion, als akute, nekrotisierende, inflammatorische Läsion von Blutgefäßen bezeichnet, wird durch Immunisierung und anschließende Provokation mit einem körperfremden Antigen oder direkt mit einem gegen die Testspezies gerichteten Antikörper ausgelöst. Extravasation, Ödembildung und Anlockung
35 von Entzündungszellen kennzeichnen die Arthus-Reaktion. Als Meßparameter dient die Ausprägung der Ödembildung einer Ratten-Hinterpfote. Je besser diese Ödembildung vermindert/verhindert werden kann, desto wirkungsvoller ist die als Therapeutikum getestete Substanz.

- Die Ergebnisse der Untersuchung der Komplement-Inhibitoren auf die Arthus-Reaktion sind in Tabelle 1 aufgeführt. Sowohl C1-Inaktivator und Faktor H als auch Faktor I haben nach i.v. Bolusapplikation einen
40 hemmenden Einfluß auf die Ödembildung. Auch subkutan appliziert verhindert Faktor I signifikant die Schwellung.

45

50

55

Tabelle 1: Wirkung von C1-Inaktivator, Faktor I und Faktor H auf die Arthusreaktion in der Rattenpfote.

Die Inhibition (%) der Schwellung wurde im Vergleich zu einer Kontrollgruppe (Placebo) ermittelt. Als Positivkontrolle wurde eine Gruppe mit Prednisolon behandelt. Die Testsubstanzen wurden eine Stunde vor Provokation appliziert (i.v. = intravenös; s.c. = subkutan; p.o. = per os), die Pfotenschwellung vier Stunden danach gemessen (10 Tiere/Gruppe).

| Substanz | Dosis | Applikation | Inhibition (%) |
|----------------|-------------|-------------|----------------|
| C1-Inaktivator | 100 IU/kg | i.v. | 12 |
| | 200 IU/kg | i.v. | 38 |
| Faktor I | 0.05 mg/kg | i.v. | 43 |
| | 0.50 mg/kg | i.v. | 55 |
| | 5.00 mg/kg | i.v. | 65 |
| | 10.00 mg/kg | s.c. | 59 |
| | 20.00 mg/kg | s.c. | 57 |
| Faktor H | 1.0 mg/kg | i.v. | 35 |
| | 10.0 mg/kg | i.v. | 44 |
| Prednisolon | 29.0 mg/kg | p.o. | 70 |

Patentansprüche

- Verwendung von Komplement-Inhibitoren zur Herstellung eines Mittels für die Therapie und Prophylaxe entzündlicher Haut- und Darmerkrankungen sowie Purpura.
- Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als Komplement-Inhibitor C1-Inaktivator, Faktor I oder Faktor H oder eine Kombination von diesen verwendet wird.
- Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß ein Mittel für die Therapie und Prophylaxe von Morbus Crohn oder Colitis ulcerosa hergestellt wird.
- Verwendung nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß ein Mittel für die Therapie und Prophylaxe von Morbus Crohn oder Colitis ulcerosa hergestellt wird.

5. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß ein Mittel für die Therapie und Prophylaxe von pustulären Dermatosen, Dermatitis oder Psoriasis hergestellt wird.
6. Verwendung nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß ein Mittel für die Therapie und Prophylaxe von pustulären Dermatosen, Dermatitis oder Psoriasis hergestellt wird.
7. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß ein Mittel enthaltend 1-5000 IU/kg x Tag C1-Inaktivator oder 0.005-100 mg/kg x Tag Faktor I oder 0.005-100 mg/kg x Tag Faktor H hergestellt wird.
8. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß ein Mittel enthaltend 5-500 IU/kg x Tag C1-Inaktivator oder 0.01-50 mg/kg x Tag Faktor I oder 0.01-50 mg/kg x Tag Faktor H hergestellt wird.
9. Verwendung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß ein intravenös, intramuskulär oder subkutan applizierbares Mittel hergestellt wird.



Europäisches
Patentamt

EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

Nummer der Anmeldung

EP 93 10 9742

| EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE | | | |
|---|---|--|--|
| Kategorie | Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile | Betrifft Anspruch | KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int. Cl.5) |
| X | WO-A-9 210 205 (T CELL SCIENCES INC.) * Seite 58, Zeile 27 - Seite 61, Zeile 12; Ansprüche 1-4; Tabelle III * | 1-9 | C07K15/00 A61K37/02 A61K37/54 |
| X,P | US-A-5 135 916 (P.J. SIMS ET AL) * Zusammenfassung * * Spalte 14, Zeile 44 - Spalte 15, Zeile 6 * | 1,9 | |
| X | DE-A-2 617 202 (TROPONWERKE DINKLAGE & CO KG) * Seite 4, Zeile 1 - Zeile 25 * * Seite 11, Zeile 23 - Seite 12, Zeile 27 * | 1,9 | |
| A,D | EP-A-0 222 611 (SANKYO COMPANY LIMITED) * Ansprüche 1-7 * | 1-9 | |
| | | | RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int. Cl.5) |
| | | | A61K C07K |
| Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt | | | |
| Recherchenort | Abschlußdatum der Recherche | Prüfer | |
| BERLIN | 15 NOVEMBER 1993 | SIATOU E. | |
| KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTE | | T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus andern Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument | |
| X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer andern Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : mündliche Offenbarung P : Zwischenliteratur | | | |